

氏 名	石 原 興 平
学 位 の 種 類	博士(医学)
学 位 記 番 号	甲 第 1061 号
学位授与の日付	平成26年 3 月13日
学 位 論 文 題 名	悪性グリオーマにおける53BP1の発現および <i>IDHI</i> 遺伝子変異、 1p/19q共欠失解析を組み合わせた治療反応性の予測
論 文 審 査 委 員	主査 教授 廣 瀬 雄 一
	副査 教授 原 田 信 広
	教授 藤 井 多久磨

論文内容の要旨

【緒言】

各種グリア細胞が起源とされている神経膠腫(グリオーマ)は原発性脳腫瘍において、髄膜腫に次いで2番目に多い腫瘍であるが、脳実質に浸潤性に発育していく特徴を有する。脳という臓器の特殊性より広範な病変切除は不可能であるため、外科手術による全摘出は困難であり、大多数において再発、腫瘍死を防ぐことができないのが現状である。したがって、化学療法と放射線療法を中心とする補助療法は不可欠とされ、2005年のStuppらの報告以降は、悪性グリオーマに対する経口DNAメチル化剤テモゾロミド(TMZ)と放射線治療との併用療法がその中心となっている。TMZはDNA中のグアニン残基メチル化を通して殺細胞効果を示すが、その耐性にはDNA修復機構が強く関わっていることが予想され、TMZおよび放射線治療によりもたらされるDNA二重鎖切断に対する耐性がDNA修復機構により獲得されている可能性がある。その一方、グリオーマは腫瘍の悪性度や種類によって治療反応性が異なることが知られているものの、その機序は不明である。そこで、我々はDNA二重鎖切断損傷の修復機構の一つである非相同末端結合non-homologous joining(NHEJ)において重要な役割を担っているp53 binding protein 1(53BP1)が、悪性グリオーマにおいてどのような発現を示すのかを免疫組織染色により明らかにし、治療反応性の予測因子として知られる遺伝学的異常である第1染色体短腕・第19染色体長腕(1p19q)の共欠失やイソクエン酸脱水素酵素1遺伝子 isocitrate dehydrogenase 1(*IDHI*)の変異とどのような相関関係にあるのかを検討した。

【対象と方法】

2007年～2012年までに藤田保健衛生大学にて腫瘍摘出術が施行されたWHO GradeⅢ～Ⅳグリオーマの症例、総数64症例74検体 {glioblastoma 34例、anaplastic astrocytoma 12例、anaplastic oligodendroglial tumor 18例(anaplastic oligodendroglioma 6例、anaplastic oligoastrocytoma 12例)}を対象とした。免疫組織染色にて53BP1陽性細胞数を評価し、無作為に抽出した100細胞中の陽性細胞数を検討した。遺伝子解析としてcomparative genomic

hybridization(CGH)法を用いて1p19q共欠失の有無を、PCR法にて*IDHI*遺伝子のcodon132(exon 4)の配列をそれぞれ解析した。

【結果】

Astrocytic tumorに分類されるanaplastic astrocytomaおよびglioblastomaはanaplastic oligodendoglia tumorより有意に53BP1陽性細胞数が少なかった。ROC解析(Reciever Operating Characteristic analysis)を用いて53BP1において、どの程度予後予測因子となりうるか検討したところ、AUC(area under the curve)0.68で予後予測能は高いとは言えないが、cut-off値を73と設定すると陽性細胞数が73以上で有意差をもって予後良好との結果が得られた。1p19q共欠失の有無および*IDHI*遺伝子変異の有無でprogression free survival(PFS)、overall survival(OS)をそれぞれ解析したところ、1p19q共欠失を有する群、*IDHI*遺伝子変異を有する群でPFSおよびOSともに有意に延長した。

【考察】

Astrocytic tumorがoligodendroglial tumorに比較して53BP1陽性細胞数が少ないという結果から、anaplastic astrocytic tumorの方がゲノム不安定性を持つことが示唆され、DNA障害型の薬剤が毒性を発揮しにくいことも考えられる。また、53BP1は陽性細胞数が多いほど予後良好となる傾向はみられるものの、重要な予後因子とは言えなかった。さらに検体数を増やして検討すると共に、*in vitro*での実験系において、その生物学的意義を検討することが必要と考えられる。

論文審査結果の要旨

53BP1発現率と関連があることが示されたイソクエン酸脱水素酵素変異と第1染色体p腕・第19染色体q腕共欠失について、その高い治療反応性の機序について質問が出された。現時点ではその機序は不明であるが、腫瘍形成過程の初期異常であり、今後の研究が期待される課題であることが議論された。53BP1の免疫組織化学陽性率については、53BP1は腫瘍組織内に比較的均一に発現していること、陽性率は各細胞でのタンパク発現量に左右され、陰性であることがタンパク欠損を意味するのではないと予測されることが述べられたが、同タンパクの発現状況と治療反応性との間の関連性については、発現細胞の少ない星細胞系腫瘍ではゲノムの不安定性が上昇する一方、その状況で増殖を続ける腫瘍にはDNA障害型薬剤による治療効果が低くなるのではないかと仮説が議論された。ROC解析による53BP1閾値の算出については意義について疑問が出されたが、数値を出すことが目的ではなく、予後との関連性を明示する助けとするためのものであることが説明された。今後は更に53BP1以外のDNA修復酵素の解析や培養細胞を用いた実験により詳細な生物学的検討を行うことも必要ではないかと議論された。

本研究は、治療困難な悪性グリオーマについて遺伝学的解析と免疫組織化学、臨床像を組み合わせながら補助療法の有効性予測と治療耐性機序の解明を行おうとした研究として評価され、学位論文として十分な質を持つものと判断された。